

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Bawang Dayak(*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.)

2.1.1 Klasifikasi

Bawang dayak atau bawang hantu (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) adalah tanaman khas yang berasal dari Kalimantan Tengah. Tanaman ini sudah dipergunakan secara empiris masyarakat Dayak sebagai tanaman obat. Tanaman ini memiliki warna umbi merah dengan daun hijau berbentuk pita dan bunganya berwarna putih. Dalam umbi *E. palmifolia* L. terkandung senyawa fitokimia yakni alkaloid, glikosida, flavonoid, fenolik, steroid dan tanin. Walaupun dikenal sebagai bawang dayak, di daerah Jawa Barat (Sunda), tanaman ini juga dikenal dengan nama daerah yaitu babawangan beureum. Hasil penapisan fitokimia pada bagian umbi menunjukkan adanya kandungan metabolit sekunder antara lain : alkaloid, glikosida, flavanoid, fenolik, kuinon, steroid, zat tanin dan minyak atsiri. Bagian daun dan akar mengandung flavonoida dan polifenol (Heyne, 1987). Hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan di Institut Pertanian Bogor menunjukkan bahwa umbi *E.palmifolia* L. mengandung senyawa *naphtoquinonens* dan turunannya seperti *elecanacine*, *eleutherine*, *eleutherol*, *eleuthernone*. Selain itu, *naphtoquinonens* dikenal sebagai antimikroba, antifungal, antiviral, dan antiparasitik (Nur,2011).

Secara taksonomi, tanaman bawang dayak memiliki jalur klasifikasi yaitu:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledonae
Ordo	: Liliales
Famili	: Liliaceae
Genus	: Eleutherine
Spesies	: <i>Eleutherine palmifolia</i> L. (Depkes, 2001).



Gambar 2. 1 *E.palmifolia* L.

(Sumber : Puspawati, 2013)

2.1.2 Nama Daerah

Menurut herbaltama *E. palmifolia* L. memiliki nama lain, secara umum dikenal di Indonesia dengan nama bawang kapal dan bawang merah hutan. Selain nama umum tumbuhan *E. palmifolia* L. juga memiliki beberapa nama daerah yaitu bawang dayak (Palangkaraya, Samarinda); bawang hantu/kambe (Dayak); bawang sabrang, babawangan beureum, bawang siyem (Sunda); brambang sabrang, luluwan sapi, teki sabrang (Jawa); bawang sayup (Melayu) dan bawang lubak (Punan Lisum).

2.1.3 Morfologi Tanaman

Secara morfologi, umbi *E. palmifolia* L. menyerupai umbi bawang merah. Bentuk umbi *E. palmifolia* L. berlapis-lapis, tetapi tiap lapisan memiliki ketebalan yang berbeda dengan bawang merah yang lapisan bulbusnya agak lembek. Ciri khas dari umbi *E. palmifolia* L. adalah tidak berbau menyengat dan mengeluarkan zat yang menyebabkan mata pedih seperti bawang merah. *E. palmifolia* L. merupakan salah satu jenis anggrek tanah dengan bagian pangkal umbinya tumbuh daun menjulang sejajar. Daun *E. palmifolia* L. seperti daun ilalang dengan garis-garis yang searah dengan bentuk tulang daun, menyerupai palem berbentuk pita sepanjang 15-20 cm dan lebar 3-5 cm. Tanaman ini berakar serabut. Jika ditempatkan dipot kecil berdiameter ± 5 cm, maka dalam waktu ± 45 hari seluruh pot akan terenuhi oleh akar serabut yang bentuknya melingkar. Bunga dari tanaman ini seperti bunga anggrek tanah dengan berwarna putih, bentuknya mungil, dan berkelopak lima (Indrawati, *et al.*, 2013).

Seperti yang tertulis dalam tabel hasil penelitian skrining fitokimia ekstrak air dan ekstrak etanol umbi *E. palmifolia* L. mengandung berbagai zat aktif yaitu *alkaloid, saponin, tannin, fenolik, flavonoid, steroid, triterpenoid* (Febrinda *et. al.*,2013).

Tabel II. 1 Senyawa yang terkandung dalam *E. palmifolia* L.

Jenis Pengujian	Jenis Ekstrak	
	Air	Etanol
Alkaloid	+++	++
Saponin	+	+
Tanin	+	++
Fenolik	++	+++
Flavonoid	-	+++
Triterpenoid	++++	++++
Steroid	+	+

Keterangan : - = negative, + = positif lemah, ++ = positif , +++ = positif kuat, ++++ = positif kuat sekali

(Sumber : Febrinda *et. al.*,2013)

2.2 Tinjauan Tentang Penyakit Diare

2.2.1 Definisi Diare

Diare didefinisikan sebagai memiliki mencret atau berair setidaknya tiga kali perhari, atau lebih sering dari biasanya bagi seorang individu (World Health Organization,2009). Pasien diare kronis dengan sindrom mal-absorpsi karena berbagai penyebab sangat umum terjadi. Penyebab yang paling sering dikaitkan adalah *Celiac disease*, infeksi usus kronis, dan sebagainya (Junwen Yang *et al.*, 2017). Ada banyak kemungkinan penyebab diare akut, tetapi infeksi adalah penyebab paling umum. Infeksi diare terjadi karena makanan dan pencemaran air melalui rute oral. Bakteri pemicu kemungkinan dalam banyak kasus adalah *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, *Shigella Sp.*, *Vibrio cholerae*, dan *Clostridium difficile* (Dipiro,2008).

Penyakit diare sering kali dikaitkan dengan status kesehatan lingkungan. Diare juga identik dengan jamban. Data dan studi epidemiologi memang kuat menghubungkan fakta tersebut. Penyakit diare merupakan salah satu masalah kesehatan di negara berkembang, terutama di Indonesia baik di perkotaan maupun di pedesaan. Penyakit diare bersifat endemis juga sering muncul sebagai Kejadian Luar Biasa (KLB) dan diikuti korban yang tidak sedikit. Untuk mengatasi penyakit diare

dalam masyarakat baik tata laksana kasus maupun untuk pencegahannya sudah cukup dikuasai. Akan tetapi permasalahan tentang penyakit diare masih merupakan masalah yang relatif besar (Suraatmaja, 2010).

Angka kesakitan diare sekitar 200-400 kejadian di antara 1000 penduduk setiap tahunnya. Dengan demikian di Indonesia dapat ditemukan sekitar 60 juta kejadian setiap tahunnya, sebagian besar (70-80%) dari penderita ini adalah Anak di bawah Lima Tahun (BALITA). Sebagian dari penderita (1- 2%) akan jatuh ke dalam dehidrasi dan kalau tidak segera ditolong 50- 60% di antaranya dapat meninggal. Kelompok ini setiap tahunnya mengalami kejadian lebih dari satu kejadian diare (Public Health, 2015).

2.1.1 Klasifikasi Diare

Menurut Simadibrata (2006), diare dapat diklasifikasikan berdasarkan :

1. Lama waktu diare
 - a. Diare akut

Diare yang berlangsung kurang dari 15 hari. Sedangkan menurut World Gastroenterology Organization Global Guidelines (2005) diare akut didefinisikan sebagai pasase tinja yang cair atau lembek dengan jumlah lebih banyak dari normal, berlangsung kurang dari 14 hari. Diare akut biasanya sembuh sendiri, lamanya sakit kurang dari 14 hari, dan akan mereda tanpa terapi yang spesifik jika dehidrasi tidak terjadi (Wong, 2009).

- b. Diare kronik

Diare kronik adalah diare yang berlangsung lebih dari 15 hari (Wong, 2009).

2. Mekanisme patofisiologik

- a. Osmolalitas intraluminal yang meninggi, disebut diare sekretorik.
- b. Sekresi cairan dan elektrolit meninggi.
- c. Malabsorpsi asam empedu.
- d. Defek sistem pertukaran anion atau transport elektrolit aktif di enterosit.
- e. Motilitas dan waktu transport usus abnormal.
- f. Gangguan permeabilitas usus.
- g. Inflamasi dinding usus, disebut diare inflamatorik.

h. Infeksi dinding usus, disebut diare infeksi.

3. Penyakit infeksi atau non-infektif.

2.1.2 Penyebab Diare

Secara klinis penyebab diare dapat dikelompokkan dalam golongan enam besar, tetapi yang sering ditemukan di lapangan adalah diare yang disebabkan infeksi dan keracunan. Berikut adalah penyebab diare :

1. Infeksi :

a) bakteri, misal: *Shigella*, *Salmonella*, *E. Coli*, golongan *vibrio*, *bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter* dan *aeromonas*;

b) virus misal: Rotavirus, Norwalk dan adenovirus;

c) parasit, misal: cacing perut, *Ascaris*, *Trichiuris*, *Strongyloides*, *Blasistis huminis*, protozoa, *Entamoeba histolitica*, *Giardia labila*, *Belantudium coli* dan *Crypto*

2. Alergi

3. Malabsorpsi

4. Keracunan yang dapat disebabkan; a) keracunan bahan kimiawi dan b) keracunan oleh bahan yang dikandung dan diproduksi: jasad renik, ikan, buah-buahan dan sayur-sayuran

5. Immunodefisiensi (Widaya, 2004).

2.3 Tinjauan *Escherichia coli*

Bakteri merupakan organisme uniseluler, prokariotik, dan umumnya tidak memiliki klorofil dengan ukuran rata-rata selnya $0,5-1 \times 2-5 \mu\text{m}$, memiliki bentuk yang beraneka ragam yaitu kokus (bulat), basil (batang), dan spirilia (spiral).

Taksonomi *E. coli* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Familia	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>E. coli</i> (Todar, 2008)



Gambar 2. 2 *E. coli*

(Sumber : CDC,2015)

Theodor Escherich adalah orang yang pertama kali menggambarkan *E. coli* pada tahun 1885. Selama bertahun-tahun bakteri itu hanya dianggap sebagai organisme dari usus. Baru pada tahun 1935 *E. coli* terbukti menjadi penyebab wabah diare di kalangan bayi. *E. coli* merupakan keluarga bakteri terbesar Enterobacteriaceae, bakteri enterik, yang merupakan gram negatif yang anaerobik yang hidup di saluran pencernaan dalam keadaan sehat maupun sakit.

Enterobacteriaceae adalah bakteri yang paling penting secara medis. Beberapa dalam keluarga adalah patogen usus manusia (misalnya Salmonella, Shigella, Yersinia). Beberapa lainnya adalah koloni normal saluran gastrointestinal manusia (misalnya Escherichia, Enterobacter, Klebsiella), namun bakteri ini juga dapat dikaitkan dengan penyakit manusia (Todar, 2008).

Bakteri *E. coli* merupakan bakteri yang bersifat fakultatif anaerob dan memiliki tipe metabolisme fermentasi dan respirasi tetapi pertumbuhannya paling banyak di bawah keadaan anaerob (Meng dan Schroeder, 2007). Suhu yang baik untuk menumbuhkan *E. coli* yaitu pada suhu optimal 37°C pada media yang mengandung 1% peptone sebagai sumber nitrogen dan karbon. Ukuran sel dari bakteri *E. coli* biasanya berukuran panjang 2,0 – 6,0 µm dan lebar 1,1 – 1,5 µm dengan bentuk sel bulat dan cenderung ke batang panjang (Melliawati, 2009). Struktur sel dari bakteri *E. coli* terdiri dari dinding sel, membran plasma, sitoplasma, flagella, nucleus (inti sel), dan kapsul. Membran sel terdiri dari sitoplasma yang mengandung nukleoprotein. Membran sel *E. coli* ditutupi oleh dinding sel berlapis kapsul. Flagela dan fili *E. coli* menjulur dari permukaan sel.

2.3.1 Patogenesis *E. coli*

Lebih dari 700 jenis antigenik (serotipe) *E. coli* dikenali berdasarkan antigen O, H, dan K. Serotipe penting dalam membedakan strain yang benar-benar menyebabkan penyakit. Dengan demikian, serotipe O157: H7 (O mengacu pada antigen somatik; H mengacu pada antigen flagela) yang menjadi penyebab HUS (sindrom uremik hemolitik). Saat ini, terutama yang menyebabkan diare patogen *E. coli* dikelompokkan berdasarkan faktor virulensi dan hanya dapat diidentifikasi oleh sifat-sifatnya (Todar, 2008).

Strain patogen *E. coli* menyebabkan tiga jenis infeksi pada manusia: infeksi saluran kemih (ISK), meningitis neonatal, dan penyakit usus (gastroenteritis). Penyakit yang disebabkan oleh strain *E. coli* tertentu bergantung pada distribusi dan tanda dari berbagai faktor penentu seperti virulensi, termasuk adhesins, invasins, toxins, dan kemampuan untuk menahan pertahanan inang (Todar, 2008).

2.3.2 Uji Kualitatif *E. coli*

Menurut Nuria *et. al.* pada tahun 2009 uji kualitatif terhadap bakteri *E. coli* meliputi beberapa rangkaian pengujian, diantaranya meliputi :

1) Uji penduga

Merupakan uji penduga tentang ada tidaknya kehadiran bakteri koliform berdasarkan terbentuknya asam dan gas disebabkan karena fermentasi laktosa bakteri golongan *coli*.

2) Uji penguat

Biakan yang positif gas pada *Lactose Broth* (LB) dari pengujian tes perkiraan atau pendahuluan, ke dalam tabung yang berisi 5 ml *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLB) yang di dalamnya terdapat tabung durham terbalik. Hasil dinyatakan positif apabila pada tabung durham terbentuk gas.

3) Biakan murni dengan cara tuang Isolasi bakteri dengan cara ini untuk menentukan perkiraan jumlah bakteri hidup dalam suatu cairan, misalnya air, susu, kemih atau biakan bulyon. Tujuan pemurnian untuk mendapatkan koloni tunggal. Biakan murni *Escherichia coli* pada medium Nutrient Agar.

2.3.3 Jenis-jenis Bakteri *E. coli*

E. coli yang menyebabkan diare diklasifikasikan berdasarkan karakteristik sifat virulensinya, dan masing-masing kelompok menyebabkan penyakit melalui mekanisme yang berbeda.

- Enterotoksigenik *E. coli* (ETEC)

Enterotoxigenic *Escherichia coli* (*E. coli*), atau ETEC merupakan penyebab penting dari penyakit diare bakteri. Infeksi dengan ETEC adalah penyebab utama penyakit diare pada wisatawan di negara-negara berpenghasilan rendah, terutama di kalangan anak-anak. ETEC ditularkan melalui makanan atau air yang terkontaminasi kotoran binatang atau manusia. Infeksi bisa dicegah dengan menghindari atau menyiapkan makanan dan minuman yang bisa terkontaminasi bakteri dengan baik, sekaligus sering mencuci tangan dengan sabun (CDC, 2015)

- Enteropatogenik *E. coli* (EPEC)

Enteropathogenic *E. coli* EPEC adalah jenis khusus dari *E. coli* yang menempel pada sel usus. Beberapa Jenis EPEC dapat menyebabkan diare. EPEC ditularkan dari satu orang melalui infeksi ke orang lain. EPEC menyebabkan diare pada bayi dan anak-anak di negara berkembang. EPEC telah terdeteksi dikotoran anak sehat tanpa diare di Amerika Serikat (Intermountain Health Care, 2010).

- Enteroinvasif *E. coli* (EIEC)

Enteroinvasive *E. coli* (EIEC), bentuk patogen khas *E. coli* yang menyebabkan disentri. EIEC pertama kali dijelaskan pada tahun 1944, ketika disebut parasetol bacillus, namun kemudian diidentifikasi sebagai *E. coli* O124 (Ruiting Lan *et. al.*, 2004).

- Enterohemoragik *E. coli* (EHEC)

Enterohemoragik *E. coli* (EHEC) mampu mengeluarkan *Shiga-like toxins*, yang menyebabkan dua macam sindrom, yaitu *hemorrhagic colitis* dan HUS (*Hemolytic-uremic syndrome*). Toksin ini yang bertanggungjawab terhadap gejala sisa sistemik (*systemic sequelence*) akibat penyakit ini (Arisman, 2009).

- Enteroagregatif *E. coli* (EAEC)

Akibat infeksiya menyebabkan diare akut dan kronik pada negara berkembang. Bakteri ini ditandai dengan pola khas perlekatannya pada sel manusia. EAEC memproduksi hemolisin dan enterotoksin yang sama dengan ETEC (Brooks *et al.*, 2008).

2.4 Tinjauan Pewarnaan Gram

Salah satu teknik dari pewarnaan bakteri adalah pewarnaan gram, yang dapat dibedakan berdasarkan tipe dinding sel yang menyusun bakteri tersebut gram negatif. Dinding sel pada bakteri gram negatif memiliki tambahan plasma membran dalam strukturnya. Membran luar ini terkadang toksik (beracun) bagi hewan dan dapat menimbulkan penyakit.

Tahapan dari pewarnaan gram dilakukan dengan cara teteskan satu sampai dua tetes aquades ditetaskan pada kaca objek, selanjutnya diambil koloni tunggal dari masing-masing isolat bakteri menggunakan jarum inokulasi kemudian disebar secara merata. Hasil olesan bakteri tersebut dibiarkan mengering dan difiksasi. Selanjutnya olesan bakteri ditetesi dengan larutan ungu Kristal-iodium selama satu menit dan dibilas dengan aquades. Kemudian olesan tersebut ditetesi oleh larutan iodim selama dua menit serta dibilas kembali dengan aquades. Olesan selanjutnya ditetesi dengan alkohol 95% selama 10 detik sampai zat warna tidak luntur lagi, dan kemudian dibilas menggunakan aquades. Tahap air dari proses pewarnaan ini adalah dengan menambahkan pewarnaan pembanding seperti safranin selama 10-15 detik dan dibilas dengan aquades. Selanjutnya ditetesi minyak emersi lalu dilihat bentuk dan warna sel bakteri dibawah mikroskop dengan pembesaran 40x10 (Hadioetomo,1993).

2.5 Tinjauan Tentang Antibiotik

Antibiotik merupakan golongan senyawa alami atau sintesis yang memiliki kemampuan untuk menekan atau menghentikan proses biokimiawi didalam suatu organisme, khususnya pada infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Selain itu antibiotik adalah substansi yang mampu menghambat pertumbuhan serta reproduksi bakteri atau fungi(jamur) (Utami,2012).

Penggunaan dari antibiotik ini dikhususkan untuk mengobati penyakit infeksi atau sebagai alat seleksi terhadap bakteri yang sudah berubah bentuk dan sifat dalam

ilmu genetika. Antibiotik ini dapat membunuh atau melemahkan suatu mikroorganisme, seperti bakteri, parasit, atau jamur (Utami, 2012).

Antibakteri atau antimikroba adalah obat yang membasmi mikroba khususnya mikroba yang merugikan manusia. Pembasmian bakteri dengan antibakteri ada yang bersifat bakteriostatik(menghambat) dan bakterisidal(membunuh) (Farmakologi dan Terapi,2007).

Menurut buku Farmakologi dan Terapi (2007), berdasarkan mekanisme kerja antibakteri dibagi menjadi kedalam 5 kelompok yaitu :

1. Antibakteri yang menghambat metabolisme sel bakteri

Antibakteri golongan ini bersifat bakteriostatik yaitu dengan menghambat metabolisme sel yang disebut sebagai antimetabolit. Senyawa ini menghambat mikroorganisme dan bukan menghambat metabolisme dari host. Aktivitas antibakteri golongan ini menghambat reaksi enzim katalis yang terdapat dalam sel bakteri (Farmakologi dan Terapi,2007).

2. Antibakteri yang menghambat sintesis dinding sel bakteri

Penghambatan dinding sel bakteri menyebabkan lisis dinding sel bakteri. Agen ini bekerja dengan cara menghambat dan mengaktifasi enzim yang dapat merusak dinding sel bakteri. Contoh obatnya seperti penisilin, sefalosporin, dan vankomisin (Farmakologi dan Terapi,2007).

3. Antibakteri yang berinteraksi dengan membran plasma

Antibakteri ini bekerja dengan mempengaruhi permeabilitas membrane plasma. Obat ini merusak membran sel setelah bereaksi dengan fosfat pada fosfolipid membran sel bakteri (Farmakologi dan Terapi,2007).

4. Antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat

Antibakteri golongan ini bekerja dengan menghambat enzim yang berperan dalam sintesis asam nukleat. Contoh obatnya seperti sulfonamide, trimethoprim, kuinolon, dan nitroimidazol (Farmakologi dan Terapi,2007).

5. Antibakteri yang menghambat sintesis protein

Antibakteri ini bekerja mempengaruhi ribosom bakteri dan enzim yang esensial untuk sintesis protein sehingga sintesis protein terhambat. Contoh obatnya seperti aminoglikosida, tetrasiklin, makrolida, kloramfenikol (Farmakologi dan Terapi, 2007).

2.6 Aktivitas Antibakteri dari Senyawa Metabolit Sekunder

Dari berbagai kandungan kimia umbi *E. palmifolia* L. senyawa-senyawa aktif yang bersifat antimikroba yaitu :

1. Flavonoid

Flavonoid adalah metabolit kimia yang terdapat di berbagai bagian tanaman seperti pada madu, buah, biji, sayuran, anggur dan teh. Metabolit ini diketahui memiliki khasiat sebagai antimikroba, antivirus, antialergi dan anti-inflamasi. Flavonoid yang merupakan fenolat yang terhidroksilasi yang mengandung satu gugus karbonil, sedangkan penambahan gugus 3-hidroksil menghasilkan flavonol (Gabor, 1986). Senyawa flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri selain itu flavonoid memiliki sifat lipofilik sehingga memungkinkan akan merusak membran sel bakteri (Hamdiyanti, 2008).

2. Terpenoid

Terpenen atau terpenoid aktif melawan bakteri, jamur, virus, dan protozoa. Seperti terpenoid yang diekstraksi dari kulit pohon *Acacia nilotica* memiliki aktivitas antimikroba terhadap *S. viridans*, *S. aureus*, *E. coli*, *B. subtilis* dan *Shigella sonnei* (Banso, 2009). Terpenoid diketahui dapat bersifat aktif terhadap bakteri, fungi, virus, dan protozoa dengan mekanisme antimikroba dalam merusak membran sel oleh senyawa lipofilik (Hamdiyanti, 2008).

3. Tanin

Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Nuria *et al.*, 2009). Tanin memiliki aktifitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktifkan adhesin sel mikroba juga menginaktifkan

enzim, dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel (Cowan, 1994). Menurut Sari (2011), tanin juga mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Hal ini menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati. Selain itu, menurut Akiyama *et al.* (2001), kompleksasi dari ion besi dengan tanin dapat menjelaskan toksisitas tanin. Mikroorganisme yang tumbuh di bawah kondisi aerobik membutuhkan zat besi untuk berbagai fungsi, termasuk reduksi dari prekursor ribonukleotida DNA. Hal ini disebabkan oleh kapasitas pengikat besi yang kuat oleh tanin.

4. Saponin

Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar (Nuria *et al.* 2009). Menurut Cavalieri *et al.* (2005), senyawa ini berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan, lalu mengikat membran sitoplasma dan mengganggu dan mengurangi kestabilan itu. Hal ini menyebabkan sitoplasma bocor keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel. Agen antimikroba yang mengganggu membran sitoplasma bersifat bakterisida.

5. Alkaloid

Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri adalah dengan cara mengganggu komponen peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel (Darsana, 2012). Selain itu, alkaloid bekerja dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan dan menghambat enzim topoisomerase yang mempunyai peran sangat penting dalam proses replikasi, transkripsi, dan rekombinasi DNA dengan cara memotong dan menyambungkan untai tunggal atau untai ganda DNA (Campbell, 2010).

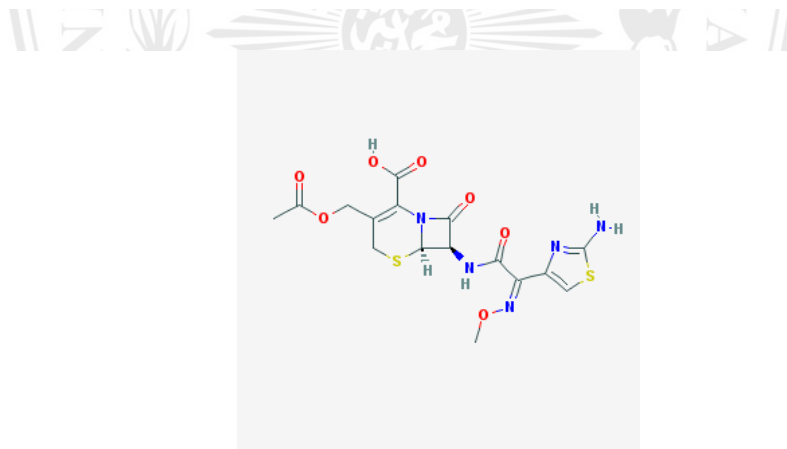
6. Fenol

Menurut Rachmawati (2011) senyawa fenolik apabila dalam konsentrasi rendah dapat merusak membran sitoplasma yang dapat menyebabkan kebocoran inti

sel dan pada konsentrasi tinggi menyebabkan fenol berkoagulasi dengan protein seluler.

2.6.1 Mekanisme Kerja Cefotaxime

Cefotaxime adalah antibiotik sefalosporin semikintetik generasi ketiga dengan aktivitas bakterisidal. Cefotaxime memiliki aktivitas spektrum yang luas terhadap bakteri gram positif dan gram negatif. Tidak ada aktivitas melawan *Pseudomonas aeruginosa*. Cefotaxime bekerja dengan menghambat biosintesis dinding sel bakteri. Cefotaxime menghambat sintesis mukopeptida dengan mengikat dan menonaktifkan protein pengikat penisilin sehingga mengganggu langkah transpeptidasi akhir yang diperlukan untuk menghubungkan silang unit peptidoglikan yang merupakan komponen dinding sel bakteri. Hal ini menyebabkan pengurangan stabilitas dinding sel dan menyebabkan lisis sel. Fitur positif dari sefotaksim adalah bahwa ia menunjukkan resistensi terhadap penisilinase dan berguna untuk mengobati infeksi yang resisten terhadap turunan penisilin (Pubchem, 2005).



Gambar 2. 3 Struktur Cefotaxime

(Sumber : Pubchem,2005)

Sekitar 20-36% dosis 14 C-sefotaksim intravena diekskresikan oleh ginjal sebagai sefotaksim yang tidak berubah dan 15-25% sebagai turunan desasetil, metabolit utama. Metabolisme desacetyl telah terbukti berkontribusi terhadap

aktivitas bakterisidal. Dua metabolit urin lainnya (M2 dan M3) mencapai sekitar 20-25%. Dua metabolit tersebut tidak memiliki aktivitas bakterisidal (Pubchem,2005).

Pemberian injeksi intramuskuler, intravena atau infus: 1 g tiap 12 jam, dapat ditingkatkan sampai 12 g per hari dalam 3-4 kali pemberian. (Dosis di atas 6 g/hari diperlukan untuk infeksi pseudomonas). Neonatus: 50 mg/kg bb/hari dalam 2-4 kali pemberian. Pada infeksi berat, dapat ditingkatkan 150-200 mg/kg bb/hari. Anak: 100-150 mg/kg bb/hari dalam 2-4 kali pemberian. (pada infeksi berat dapat ditingkatkan menjadi 200 mg/kg bb/hari). Gonore: 1 g dosis tunggal (Pionas,2015).

2.6.2 Mekanisme Resistensi Antibiotik

Pada jurnal yang ditulis oleh Wibawa (2012) terkait mekanisme resistensi bakteri terhadap antibiotik, resistensi berhubungan erat dengan penggunaan antibiotik terhadap manusia, hewan ternak, pertanian, dan perikanan. Resistensi antibiotik terjadi karena adanya "*selection pressure*" yang terjadi pada saat antibiotik digunakan di klinik, hewan ternak, industri rumah tangga, maupun pertanian. Setiap penggunaan antibiotik berarti menambah terjadinya *selection pressure*. Mekanisme ini bahkan dapat ditemukan pada pengobatan dengan antibiotik jangka pendek (tujuh hari) pada pasien dengan febril netropenia. Hal yang mendasari proses terjadinya resistensi terhadap antibiotik dapat dijelaskan dengan menganalogikan adanya suatu populasi yang terdiri dari dua macam strain bakteri. Bakteri yang rentan terhadap antibiotik ditemukan dominan pada populasi tersebut, hanya sebagian kecil populasi bakteri memiliki mutasi genetik dan bersifat resisten terhadap antibiotik. Pemberian antibiotik dapat berlaku sebagai "*selective pressure*" pada populasi bakteri ini. Hasil akhirnya adalah terjadinya dominasi bakteri mutan yang resisten terhadap antibiotik. Sementara, bakteri yang rentan terhadap antibiotik akan musnah dari populasi tersebut oleh karena pemberian antibiotik. Bakteri resisten ini yang akhirnya dijumpai di dalam tubuh host, manusia maupun hewan.

Sirkulasi bakteri resisten yang terhindar dari pemusnahan antibiotik ini melibatkan banyak sistem, yang meliputi sistem kehidupan manusia, rumah sakit, hewan peliharaan, hewan ternak, pertanian, limbah biologi, industri, lingkungan tanah dan air, dan juga kehidupan hewan liar (Wibawa,2012).

Gen pengkode resistensi antibiotik dapat menyebabkan perubahan karakteristik bakteri yang memilikinya. Sesuai dengan karakteristik prokaryotik, maka sel bakteri memiliki kemampuan untuk melakukan pertukaran materi genetik secara horizontal. Mekanisme perpindahan materi genetik dapat terjadi dengan cara konjugasi, transformasi ataupun transduksi (Wibawa, 2012).

Perolehan materi genetik secara horizontal dapat diperantarai oleh plasmid atau transposable elements lainnya seperti transposon dan integron. Dengan cara inilah terjadi penyebaran sifat resistensi terhadap antibiotik antar bakteri. Transfer horizontal gen pengkode resistensi ini menambah potensi penyebaran bakteri resisten tidak hanya melalui mekanisme *selection pressure* yang diikuti oleh transmisi ke ekosistem, namun juga memungkinkan meloncatnya gena pengkode resistensi dari satu spesies ke spesies yang lain dan dari satu genus ke genus yang lainnya (Wibawa, 2012).

2.7 Uji Aktivitas antimikroba

Uji kepekaan antimikroba dapat digunakan dalam penemuan obat. Penggunaan metode yang tepat dalam pengujian antimikroba untuk penelitian ekstrak secara *in vitro* dan obat dapat memberikan agen antimikroba yang potensial. Ada beberapa cara untuk menentukan efek antimikroba suatu zat antara lain (Balouiri *et al.*, 2015).

2.7.1 Metode difusi

Menurut komite Eropa pada tes kepekaan antimikroba metode difusi ini adalah salah satu pendekatan tertua untuk menguji kepekaan antimikroba. Dan tetap menjadi salah satu metode uji kepekaan antimikroba yang paling banyak digunakan di laboratorium klinis. Sangat cocok untuk menguji sebagian besar bakteri yang patogen.

Cara yang paling mudah untuk menetapkan kerentanan antibiotik adalah dengan menginokulasikan plat agar dengan biakan dan membiarkan antibiotik berdifusi ke media agar seperti pada metode cakram *Kirby-Bauer* ini. Cakram telah mengandung organisme yang diuji. Konsentrasi menurun sebanding dengan luas bidang difusi. Pada jarak tertentu pada masing-masing cakram, antibiotik terdifusi

sampai pada titik antibiotik tersebut tidak lagi menghambat pertumbuhan mikroba. Efektivitas antibiotik ditunjukkan oleh zona hambatan. Zona hambatan ini ditandai dengan area jernih atau bersih yang mengelilingi cakram tempat zat dengan aktivitas antimikroba terdifusi. Diameter zona dapat diukur dengan penggaris dan hasil dari eksperimen ini merupakan satu antibiogram (Harmita, 2008).

Metode difusi agar ini telah digunakan secara luas dengan menggunakan cakram kertas saring yang tersedia secara komersial. Ukuran zona hambat ini juga dipengaruhi oleh kepadatan atau viskositas media biakan, kecepatan difusi antibiotik, konsentrasi antibiotik pada cakram filter, sensitivitas organisme terhadap antibiotik, dan interaksi antibiotik dengan media (Harmita, 2008).

2.7.2 Metode Dilusi Agar

Metode dilusi agar adalah metode uji kepekaan *in vitro* yang dilakukan secara kuantitatif dari agen antimikroba terhadap isolat bakteri atau jamur tertentu karena nilai MIC (*Minimum Inhibitor Concentration*) dapat diperoleh dengan metode ini. Metode ini dilakukan dengan membuat cawan berisi media agar yang ditambahkan agen antimikroba dengan berbagai konsentrasi. Cawan tersebut kemudian diinokulasi dengan suspensi yang terstandarisasi untuk tes organisme. Setelah inkubasi pada $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 18-24 jam, tes dikaji dan menentukan MIC. Hasil akhir secara signifikan dipengaruhi oleh metodologi, dimana harus dikendalikan secara hati-hati jika ingin hasil sesuai yang ingin dicapai (dalam laboratorium atau antar laboratorium) (Jiang, 2011; CLSI, 2012).

Metode ini digunakan untuk pengujian isolat jamur aerobik dan bakteri fakultatif yang tumbuh dengan baik setelah inkubasi semalam di dalam agar Mueller-Hinton (MHA) bernutrisi atau Mueller-Hinton broth (MHB) (Jiang, 2011; CLSI, 2012).

2.7.3 Metode Difusi Tabung

Metode ini digunakan untuk menentukan KHM (kadar hambat minimal) dan KBM (kadar bunuh minimal) dari obat antimikroba atau suatu senyawa yang diduga sebagai antimikroba. Metode dilusi tabung ini menggunakan tabung reaksi yang diisi media cair dan sejumlah tertentu sel mikroba yang diuji. Kemudian masing-masing

tabung diisi dengan obat atau senyawa yang diduga antimikroba yang telah diencerkan secara serial. Selanjutnya, seri tabung diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan pada tabung. Konsentrasi terendah obat pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba) adalah KHM dari obat. Selanjutnya biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasikan pada media agar padat, diinkubasikan dan keesokan harinya diamati ada tidaknya koloni mikroba yang tumbuh. Konsentrasi terendah obat pada biakan padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni mikroba adalah KBM dan obat terhadap bakteri uji. Dalam hal ini KHM dapat ditentukan dengan cara menggunakan medium agar padat yang disebut dengan metode *E test* (Dzen *et al*, 2003).

2.7.4 Metode Bioautografi

Analisis kromatografi planar yang dihubungkan dengan metode biologis dikenal dengan istilah bioautografi. Metode ini merupakan metode yang efektif dan relatif murah yang digunakan untuk analisis fitokimia dari suatu ekstrak dimana untuk mengidentifikasi senyawa utama dari suatu tanaman. Metode ini dapat dilakukan baik di laboratorium yang sangat maju serta di laboratorium penelitian kecil yang memiliki akses minimum untuk peralatan canggih. Metode bioautografi merupakan metode sederhana yang digunakan untuk menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dan antikapang. Selain itu bioautografi merupakan sebuah metode yang sederhana, cepat dan murah untuk skrining kimia dan biologi ekstrak tumbuhan yang kompleks, isolasi senyawa yang dipandu dengan pengujian aktivitas. Penerapan utama metode bioautografi adalah skrining cepat sejumlah besar sampel untuk bioaktivitas, yaitu, antibakteri, antijamur, antioksidan, penghambatan enzim, dan lain-lain dan dalam pengarahannya target untuk isolasi senyawa aktif (Dewanjee *et al*, 2014; Kusumaningtyas *et al*, 2008).

Kromatografi kertas (PC) dan kromatografi lapis tipis (TLC) merupakan alat untuk skrining agen antimikroba melalui bioautografi. Ada tiga metode bioautografi yakni bioautografi kontak atau difusi agar, deteksi bioautografi TLC langsung, bioautografi imersi atau agar overlay (Dewanjee *et al*, 2014).

2.8 Ekstrak

Ekstrak merupakan sediaan kering, kental, maupun cair yang dibuat dengan cara mengambil sari dari simplisia dengan cara yang tepat dan sesuai di luar pengaruh matahari secara langsung (Sudewo,2009).

Ekstraksi merupakan salah satu proses penarikan senyawa aktif yang terkandung didalam tanaman menggunakan bahan pelarut yang sesuai dengan kelarutan senyawa aktifnya (Yuliani,2012). Simplisia yang diekstraksi mengandung senyawa aktif yang dapat larut seperti serat, karbohidrat, protein, dan lain-lain. Selain itu struktur kimia yang berbeda-beda juga mempengaruhi kelarutan serta senyawa-senyawa tersebut terhadap pemanasan, udara, cahaya, logam berat, dan derajat keasaman. Dengan diketahui senyawa aktif yang terkandung didalam simplisia dapat memudahkan untuk memilih pelarut yang tepat dalam proses ekstraksi (Depkes,2000). Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan (Mukhrani,2014).

Ada beberapa metode dalam ekstraksi, antara lain sebagai berikut :

2.8.1 Maserasi

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industry (Agoes,2007). Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Mukhrani,2014).

2.8.2 Perkolasi

Pada metode perkolasi, serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam sebuah perkolator (wadah silinder yang dilengkapi dengan kran pada bagian bawahnya). Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan

pada bagian bawah. metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan memakan banyak waktu (Mukhriani,2014).

2.8.3 Soxhlet

Metode ini dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel dalam sarung selulosa (dapat digunakan kertas saring) dalam klonsong yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam labu dan suhu penangas diatur di bawah suhu reflux. Keuntungan dari metode ini adalah proses ekstraksi yang kontinyu, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Kerugiannya adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus-menerus berada pada titik didih (Mukhriani,2014).

2.8.4 Reflux dan Destilasi Uap

Pada metode reflux, sampel dimasukkan bersama pelarut ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap terkondensasi dan kembali ke dalam labu. Destilasi uap memiliki proses yang sama dan biasanya digunakan untuk mengekstraksi minyak esensial (campuran berbagai senyawa menguap). Selama pemanasan, uap terkondensasi dan destilat (terpisah sebagai 2 bagian yang tidak saling bercampur) ditampung dalam wadah yang terhubung dengan kondensor. Kerugian dari kedua metode ini adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi (Mukhriani,2014).

2.9 Tinjauan Tentang Pelarut

Pelarut yang dapat digunakan dalam pembuatan ekstrak harus merupakan pelarut yang baik (optimal) untuk senyawa kandungan yang berkhasiat atau yang aktif, sehingga senyawa tersebut dapat terpisah dari bahan dan senyawa kandungan lainnya, serta ekstrak hanya mengandung sebagian besar senyawa yang diinginkan. Berbagai pelarut digunakan, akan tetapi pelarut yang toksik harus dihindari. Pelarut yang akan digunakan dapat dilihat pada Farmakope. Oleh karena itu diperlukan beberapa pertimbangan dalam pemilihan pelarut yakni sebagai berikut:

1. Selektivitas
2. Kemudahan bekerja dan proses dengan cairan tersebut

3. Ekonomis
4. Ramah lingkungan
5. Keamanan (Depkes RI, 2000).

Pemerintah juga membatasi penggunaan pelarut untuk proses ekstraksi. Pelarut yang boleh digunakan dan yang dilarang. Pelarut ini harus memenuhi standar kefarmasian atau *pharmaceutical grade*. Hingga sekarang pelarut yang dapat digunakan adalah air dan alkohol atau campuran keduanya. Jenis pelarut lain seperti metanol dan lain-lain (alkohol dan turunannya), heksana dan lain-lain (hidrokarbon aliphatik), toluen dan lain-lain (hidrokarbon aromatik), kloroform (dan segolongannya), aseton, umumnya digunakan untuk tahap separasi dan tahap pemurnian (fraksinasi). Untuk metanol penggunaannya dihindari karena sifatnya yang toksik akut dan kronik (Depkes RI, 2000).

Selain pertimbangan toksik dan tidak toksik pelarut berikut dapat digunakan berdasarkan pertimbangan suhu didih agar mudah diuapkan atau dihilangkan. Untuk menemukan suhu didih atau penguapan dapat dilakukan dalam keadaan vakum. Jenis-jenis pelarut yang dapat digunakan sebagai berikut: Pelarut tunggal senyawa hidrokarbon

1. Pelarut yang dapat digunakan misalnya petroleum eter (suhu didih 40-60°C), n-heksan (suhu didih 68,7°C), benzen (suhu didih 80,10°C), toluen (suhu didih 110,62°C), kloroform (suhu didih 61,15°C).

2. Pelarut tunggal senyawa alkohol

Pelarut yang dapat digunakan misalnya metil alkohol (suhu didih 64,5°C), etanol (suhu didih 78,32°C), n-propanol (suhu didih 91,75°C), isopropanol (suhu didih 82,40°C).

3. Pelarut tunggal keton

Misalnya aseton (suhu didih 56,24°C).

4. Pelarut tunggal asam karboksilat

Misalnya asam asetat (suhu didih 117,72°C)

5. Pelarut tunggal ester

Misalnya etil asetat (suhu didih 77,14°C)

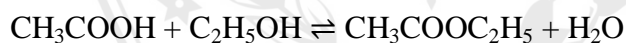
6. Pelarut tunggal eter

Misalnya di-etil eter (suhu didih 34,48°C) (Agoes, 2007).

2.9.1 Etil Asetat

Dalam penelitian kali ini digunakan pelarut etil asetat yang merupakan pelarut semi polar. Etil asetat adalah salah satu jenis pelarut yang memiliki rumus molekul $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$. Produk turunan dari asam asetat ini memiliki banyak kegunaan seperti pengaroma buah dan pemberi rasa seperti untuk es krim, kue, kopi, teh atau juga untuk parfum, digunakan pada industri tinta cetak, cat dan tiner, lem, PVC film, polimer cair dalam industri kertas, serta banyak industri penyerap lainnya seperti industri farmasi, dan sebagainya (Mc Ketta and Cunningham, 1977).

Etil asetat berwujud cairan tak berwarna, memiliki aroma khas. Etil asetat adalah pelarut semi polar yang volatile (mudah menguap), tidak beracun, dan tidak higroskopis. Etil asetat dibuat melalui reaksi esterifikasi Fischer dari asam asetat dan etanol. Reaksi esterifikasi Fischer adalah reaksi pembentukan ester dengan cara merefluks asam karboksilat bersama etanol dengan katalis asam. Reaksi esterifikasi merupakan reaksi reversible yang sangat lambat, tetapi bila menggunakan katalis, kesetimbangan reaksi akan tercapai lebih cepat. Asam yang dapat digunakan sebagai katalis adalah asam sulfat, asam klorida, dan asam fosfat. Dari reaksi asam asetat dan etanol inilah akan menghasilkan etil asetat dengan persamaan reaksinya :



Asam asetat Etanol Etil asetat Air

Tabel II. 2 Sifat fisika etil asetat

Sifat Fisika	Keterangan
Berat	88,105 gr/mol
Wujud	Cairan Bening
Densitas	0,897 gr/mol
Titik Leleh	-83,6
Titik Didih	77,1°C
Titik Nyala	-4°C

(Sumber : McKetta and Cunningham, 1977)

Beberapa kegunaan etil asetat :

1. Sebagai bahan pelarut cat dan bahan baku pembuatan plastik
 2. Untuk kebutuhan industri farmasi
 3. Sebagai bahan baku bagi industri tinta cetak
 4. Sebagai bahan baku bagi pabrik parfum, flavor, kosmetik, dan minyak atsiri
- (McKetta and Cuningham, 1977).

2.10 Tinjauan Kromatografi Lapis Tipis(KLT)

Kromatografi adalah pemisahan zat berkhasiat dan zat lain yang ada dalam sediaan dengan jalan penyarian berfraksi, atau penyerapan, atau penukaran ion pada zat berpori, menggunakan cairan atau gas yang mengalir. Banyak jenis kromatografi, salah satunya kromatografi lapis tipis (KLT). Kromatografi lapis tipis digunakan pada pemisahan zat secara cepat, dengan menggunakan zat penyerap berupa serbuk halus yang dilapiskan serba rata pada lempengkaca. Lempeng yang dilapis, dapat dianggap sebagai “kolom kromatografi terbuka” dan pemisahan didasarkan pada penyerapan, pembagian atau gabungannya, tergantung dari jenis penyerap dan cara pembuatan lapisan zat penyerap dan jenis pelarut (Materia Medika Indonesia, 1995).

Kromatografi planar ini fasa diamnya merupakan lapisan *uniform* bidang datar yang didukung oleh plat kaca, aluminium atau plat selulosa, sedangkan fasa gerak yang juga sering disebut sebagai pelarut pengembang akan bergerak sepanjang fasa diam dibawah pengaruh kapiler, pengaruh gravitasi atau pengaruh potensial listrik (Materia Medika Indonesia, 1995).

Untuk mengetahui kesesuaian zat yang diuji dengan pembanding maka bisa dilakukan dengan menghitung nilai Rf (*retention factor*). Rumus Rf sebagai berikut:

$$Rf = \frac{\text{jarak titik pusat bercak dari titik awal}}{\text{jarak garis depan dari titik awal}} \quad (\text{Stahl, 1985})$$

Perhitungan nilai Rf suatu senyawa yang diuji dan senyawa pembanding harus dilakukan pada plat yang sama. Nilai Rf dari suatu senyawa akan tetap konstan dari satu penelitian ke penelitian lainnya hanya jika kondisi kromatografi berikut juga konstan:

1. Sistem pelarut

2. Adsorben
3. Ketebalan adsorben
4. Jumlah zat yang ditotolkan
5. Temperatur (suhu)

2.10.1 Fase Diam

Kromatografi lapis tipis memiliki fase diam berupa lapisan tipis yang terdiri atas bahan padat yang dilapiskan pada permukaan penyangga datar yang biasanya terbuat dari kaca, dapat pula terbuat dari plat polimer atau logam. Lapisan ini melekat pada permukaan dengan bantuan bahan pengikat, biasanya kalsium sulfat atau amilum. Penjerap yang umum dipakai untuk kromatografi lapis tipis adalah silika gel, alumina, kieselgur dan selulosa (Gritter, *et al.*, 1991).

Dua sifat yang penting dari fase diam adalah ukuran partikel dan homogenitasnya, karena adesi terhadap penyokong sangat tergantung pada kedua sifat tersebut. Ukuran partikel yang biasa digunakan adalah 1-25 mikron. Partikel yang butirannya sangat kasar tidak akan memberikan hasil yang memuaskan dan salah satu cara untuk memperbaiki hasil pemisahan adalah dengan menggunakan fase diam yang butirannya lebih halus. Butiran yang halus memberikan aliran pelarut yang lebih lambat dan resolusi yang lebih baik (Sastrohamidjojo, 1985).

2.10.2 Fase Gerak

Fase gerak merupakan medium angkut yang terdiri atas satu atau beberapa pelarut, jika diperlukan sistem pelarut multi komponen, harus berupa suatu campuran sesederhana mungkin yang terdiri atas maksimum tiga komponen (Stahl, 1985).

Pemisahan senyawa organik selalu menggunakan pelarut campur. Tujuannya menggunakan pelarut campur adalah untuk memperoleh pemisahan senyawa yang baik. Kombinasi pelarut adalah berdasarkan atas polaritas masing-masing pelarut, sehingga dengan demikian akan diperoleh sistem pengembang yang cocok. Fase gerak yang digunakan dalam kromatografi lapis tipis antara lain: n-heksan, karbontetraklorida, benzen, kloroform, eter, etilasetat, piridian, aseton, etanol, metanol dan air (Gritter, *et al.*, 1991).

2.11 Tinjauan Uji Senyawa Golongan dengan metode KLT

Hal yang pertama dilakukan uji golongan senyawa dengan metode KLT yaitu melakukan penjenjuran bejana, dengan cara tempatkan kertas saring dalam bejana kromatografi. Tinggi kertas saring 18 cm dan lebarnya sama dengan lebar bejana. Masukkan sejumlah larutan pengembang(fase gerak) ke dalam bejana kromatografi, hingga tingginya 0,5 sampai 1 cm dari dasar bejana. Tutup kedap dan biarkan hingga kertas saring basah seluruhnya. Kertas saring harus selalu terelup ke dalam larutan pengembang pada dasar bejana. Kecuali dinyatakan lain pada masing-masing monografi, prosedur KLT dilakukan dalam bejana jenuh (Farmakope Herbal Indonesia, 2008).

Setelah itu buat larutan uji, dengan cara timbang saksama lebih kurang 1 g serbuk simplisia, rendam sambil dikocok di atas penangas air dengan 10 mL pelarut yang sesuai selama 10 menit. Masukkan filtrat ke dalam labu terukur 10 mL tambahkan pelarut sampai tanda. Setelah larutan uji selesai dilakukan penotolan larutan uji dan larutan pembanding, dengan jarak antara 1,5 sampai 2 cm dari tepi bawah lempeng, dan biarkan mengering. Tempatkan lempeng pada rak penyangga, hingga tempat penotolan terletak di sebelah bawah, dan masukkan rak ke dalam bejana kromatografi. Larutan pengembang(fase gerak) dalam bejana harus mencapai tepi bawah lapisan penjerap, totolan jangan sampai terendam. Letakkan tutup bejana pada tempatnya dan biarkan sistem hingga fase gerak merambat sampai batas jarak rambat. Keluarkan lempeng dan keringkan di udara, dan amati bercak dengan sinar tampak, ultraviolet gelombang pendek (254 nm) kemudian dengan ultraviolet gelombang panjang (366 nm). Ukur dan catat jarak tiap bercak dari titik penotolan serta catat panjang gelombang untuk tiap bercak yang diamati. Tentukan harga R_f atau R_x . Jika diperlukan, semprot bercak dengan pereaksi penampak bercak, amati dan bandingkan kromatogram bahan uji dengan kromatogram pembanding (Farmakope Herbal Indonesia, 2008).

2.11.1 Alkaloida

Secara kimia senyawa alkaloida bersifat heterogen dan banyak yang tidak dapat diidentifikasi dalam ekstrak tumbuhan dengan menggunakan kromatografi

tunggal. Selain itu kelarutan dan sifat lain alkaloid sangat berbeda-beda, cara penjarangan umum untuk alkaloid dalam tumbuhan mungkin tidak akan bias berhasil mendeteksi senyawa khas. Ekstraksi jaringan kering dengan asam asetat 10% dalam etanol, biarkan sekurang-kurangnya empat jam. Pekatkan ekstrak sampai seperempat volume asal dan endapkan alkaloid dengan meneteskan NH_4OH 1%. Larutkan sisa dalam beberapa tetes etanol atau kloroform (Harborne, 1987).

Kromatografi sebagian larutan pada kertas dapar sitrat dalam n-butanol-larutan asam sitrat dalam air. Kromatografi sebagian lain pada plat silica gel G dalam methanol- NH_4OH pekat (200 : 3). Deteksi adanya alkaloid pada kertas dan plat, mula-mula dengan fluoresensi dibawah sinar UV, kemudian menggunakan tiga penyemprot : pereaksi dragendorff, iodoplatinat, dan Marquis (Harborne, 1987).

2.11.2 Terpenoid

Secara kimia, terpenoid umumnya larut dalam lemak dan terdapat didalam sitoplasma sel tumbuhan. Biasanya terpenoid diekstraksi dari jaringan tumbuhan dengan menggunakan eter minyak bumi, eter atau kloroform, dan dapat dipisahkan secara kromatografi pada silica gel atau alumina menggunakan pelarut diatas. Silica gel merupakan penjerap yang paling banyak digunakan dengan pengembang seperti benzena-kloroform(1:1) dan benzena-etil asetat(19:1). Untuk analisis terpena yang mengandung oksigen(misalnya karvon) lapisan silica gel jangan diaktifkan dulu sebelum digunakan karena air yang ada membantu pemisahan (Harborne, 1987).

Cara umum deteksi ialah menyemprot dengan larutan KMnO_4 0,2% dalam air, H_2SO_4 pekat, atau vanillin H_2SO_4 . Pereaksi terakhir dibuat segar dengan menambahkan 8 ml etanol sambil didinginkan kedalam 0,5 g vanillin dalam 2 ml H_2SO_4 pekat. Setelah disemprot plat KLT dipanaskan dalam suhu 100-105°C sampai pembentukan warna sempurna (Harborne, 1987).

2.11.3 Flavonoid

Flavonoid mengandung sistem aromatik yang terkonjugasi dan karena itu menunjukkan serapan yang kuat pada daerah spektrum UV dan spektrum tampak. Flavonoid yang terdapat dalam tumbuhan jarang sekali dijumpai hanya flavonoid tunggal, sering terdapat flavonoid campuran. Penggolongan jenis flavonoid dalam

jaringan tumbuhan mula-mula didasarkan pada sifat kelarutan dan reaksi warna, kemudian dilanjutkan dengan pemeriksaan ekstrak tumbuhan yang telah dihidrolisis secara kromatografi satu arah, dan pemeriksaan ekstrak etanol secara dua arah (Harborne, 1987).

Sebanyak 3 ml sampel diuapkan, dicuci dengan heksana sampai jernih. Residu dilarutkan dalam 20 ml etanol kemudian disaring. Filtrat dibagi 4 bagian A, B, C dan D. Filtrat A sebagai blangko, filtrat B ditambahkan 0,5 mL HCl pekat kemudian dipanaskan pada penangas air, jika terjadi perubahan warna merah tua sampai ungu menunjukkan hasil yang positif (metode Bate Smith-Metchalf). Filtrat C ditambahkan 0,5 mL HCl dan logam Mg kemudian diamati perubahan warna yang terjadi (metode Wilstater). Warna merah sampai jingga diberikan oleh senyawa flavon, warna merah tua diberikan oleh flavonol atau flavonon, warna hijau sampai biru diberikan oleh aglikon atau glikosida. Filtrat D pada skrining fitokimia ditotolkan pada plat silika gel G60. Dielusi dengan butanol : asam asetat : air = 3:1:1, kemudian dikeringkan dan diamati pada cahaya tampak, UV 254 nm dan 366 nm. Selanjutnya plat disemprot dengan amonia, dikeringkan dan diamati kembali pada cahaya tampak, UV 254 nm dan 366 nm (Marliana, 2005).

2.11.4 Polifenol

Polifenol adalah asam fenolik dan flavonoid yang banyak ditemukan dalam sayuran, buah-buahan, serta biji-bijian (Anwar, 2009). Polifenol adalah kelompok zat kimia yang ditemukan pada tumbuhan. Zat ini memiliki tanda khas yaitu memiliki banyak gugus fenol dalam molekulnya. Polifenol sering terdapat dalam bentuk glikosida polar dan mudah larut dalam pelarut polar (Hosttetman, dkk, 1985). Beberapa golongan bahan polimer penting dalam tumbuhan seperti lignin, melanin dan tanin adalah senyawa polifenol dan kadang-kadang satuan fenolitik dijumpai pada protein, alkaloid dan terpenoid (Harbone, 1987). Senyawa fenol sangat peka terhadap oksidasi enzim dan mungkin hilang pada proses isolasi akibat kerja enzim fenolase yang terdapat dalam tumbuhan. Ekstraksi senyawa fenol tumbuhan dengan etanol mendidih biasanya mencegah terjadinya oksidasi enzim. Semua senyawa fenol berupa senyawa aromatik sehingga semuanya menunjukkan serapan kuat di daerah

spektrum UV. Selain itu secara khas senyawa fenol menunjukkan geseran batokrom pada spektrumnya bila ditambahkan basa. Karena itu cara spektrometri penting terutama untuk identifikasi dan analisis kuantitatif senyawa fenol (Harbone, 1987).

Sebanyak 3 mL sampel diekstraksi akuades panas kemudian didinginkan. Setelah itu ditambahkan 5 tetes NaCl 10% dan disaring. Filtrat dibagi 3 bagian A, B, dan C. Filtrat A digunakan sebagai blangko dan untuk uji KLT, filtrat B ditambahkan 3 tetes pereaksi FeCl_3 , dan ke dalam filtrat C ditambah garam gelatin. Kemudian diamati perubahan yang terjadi. Filtrat A ditotolkan pada fase diam Kiesel Gel 254, kemudian di eluasi dengan fase gerak Kloroform:etil asetat:asam formiat(0,5:9:1 tetes), dan disemprotkan dengan penampak noda FeCl_3 , jika timbul warna hitam menunjukkan adanya polifenol dalam sampel (Harborne, 1987; Marliana, 2005).

2.11.5 Antrakuinon

Kuinon adalah senyawa berwarna dan mempunyai kromofor dasar seperti kromofor pada benzokuinon, yang terdiri atas dua gugus karbonil yang terkonjugasi dengan dua ikatan rangkap karbon-karbonil. KLT merupakan cara umum untuk memisahkan kuinon, pada saat mengidentifikasi pigmen dari sumber tumbuhan baru harus diingat bahwa antakuinon dalam tumbuhan dalam jumlah sedikit (Harborne, 1987).

Uji antrakuinon dilakukan dengan uji Brontrager dan uji Brontrager termodifikasi. Uji Brontrager dilakukan dengan cara melarutkan 2 mL sampel dengan 10 mL akuades kemudian disaring, filtrat diekstrak dengan 5 mL benzena. Hasil ekstrak dibagi menjadi 2 bagian, A dan B. Filtrat A digunakan sebagai blangko dan filtrat B ditambahkan 5 mL ammonia kemudian dikocok, bila terdapat warna merah berarti hasil positif. Uji Brontrager termodifikasi dilakukan dengan melarutkan 2 mL sampel dengan 10 mL 0,5 N KOH dan 1 mL larutan hidrogen peroksida. Kemudian dipanaskan pada waterbath selama 10 menit, dinginkan dan disaring. Pada filtratnya ditambahkan asam asetat bertetes-tetes sampai pada kertas lakmus menunjukkan asam. Selanjutnya diekstrak dengan 5 mL benzena. Hasil ekstrak dibagi menjadi 2 bagian, A dan B. Larutan A digunakan sebagai blangko, sedangkan larutan B dibuat

basa dengan 2-5 mL larutan amonia. Perubahan warna pada lapisan basa diamati. Warna merah atau merah muda menunjukkan adanya antrakuinon (Marliana,2005).

2.12 Tanaman Uji Aktivitas Antibakteri Dengan Pendekatan Taksonomi

Dalam buku yang ditulis oleh Sudarmiyati sejarah taksonomi tumbuhan ditandai dengan munculnya sistem klasifikasi alam yang didasarkan pada hubungan kekerabatan dengan berdasarkan pada banyaknya persamaan bentuk yang terlihat. Antonie Laurent de Jussieu (1748-1836) mengusulkan, sistem klasifikasi yaitu membuat suatu bentuk kekerabatan pada suku Ranunculaceae. Ini merupakan suatu awal era sistem alam. Oleh De Jussieu tumbuhan diklasifikasikan menjadi: acotyledoneae, monocotyledoneae dan dicotyledoneae, kemudian dikelompokkan menjadi 5 berdasarkan ciri korola, yaitu apetalae, petalae, monopetalae, polypetalae dan diclinae.

Selain itu Sudarmiyati menjelaskan terkait tujuan utama taksonomi tumbuhan adalah mengenal, menjelaskan ciri, variasi suatu tumbuhan, baik yang sekarang masih ada maupun yang dahulu pernah ada dalam suatu sistem yang sesuai dengan kemajuan ilmu pengetahuan.

Diketahui bahwa umbi *E. palmifolia* dengan familia Liliaceae memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Hasil penelitian yang telah dilakukan untuk melihat aktivitas antimikrobanya terhadap mikroba kulit yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Trichophyton rubrum* (Puspadewi, 2013). Dan pada jurnal penelitian yang dilakukan oleh Beatrice et. al., (2010) terhadap ekstrak etanol dari umbi *E. palmifolia* mengenai skrining antibakteri termasuk enam bakteri gram positif, tujuh bakteri gram negatif, enam spesies jamur dan dua yeast. Pendekatan taksonomi kerabat Liliceae terhadap antibakteri dapat ditemui pada tanaman *Crocus sativus* yang memiliki familia Liliaceae. Telah terbukti bahwa ekstrak *Crocus sativus* memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas Aeruginosa*, *Shigella flexneri* (Javid et. al.,2014). Hal ini membuktikan bahwa pendekatan taksonomi dapat memberikan aktivitas yang sama.